

ИНГИБИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ВОДНОГО ИЗВЛЕЧЕНИЯ ИЗ ЙЕРБА МАТЕ (*Ilex paraguariensis*) НА ПРОЦЕСС ЛИПИДНОЙ ПЕРОКСИДАЦИИ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ МЕМБРАН

© 2022 г. Ю.О. Теселкин*,#, И.В. Бабенкова*, А.А. Кочетова*, А.Н. Осипов*

*Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ, ул. Островитянова, 1, Москва, 117997, Россия

#E-mail: teselkin-box@mail.ru

Поступила в редакцию 19.05.2022 г.

После доработки 19.05.2022 г.

Принята к публикации 26.05.2022 г.

Исследовано влияние водного извлечения из йерба мате (*Ilex paraguariensis*) на процесс пероксидного окисления фосфолипидов липосомальных мембран, индуцированный ионами Fe^{2+} . За процессом липидной пероксидации липосом наблюдали, регистрируя кинетику хемилюминесценции, активированной кумарином C-525. С повышением концентрации водного извлечения из мате в суспензии липосом происходило дозозависимое увеличение времени достижения максимума «медленной» вспышки хемилюминесценции и понижение ее интенсивности. Это свидетельствует соответственно об уменьшении скорости окисления ионов Fe^{2+} и снижении скорости образования липидных радикалов. Аналогичный результат был получен при добавлении к липосомам классических радикальных ингибиторов — бутилгидрокситолуола и тролокса. Однако в отличие от радикальных ингибиторов при дальнейшем увеличении концентрации водного извлечения в суспензии липосом (более 2.5 мкг сухого растительного сырья/мл) имело место постепенное уменьшение времени достижения максимума «медленной» вспышки хемилюминесценции, что характерно для действия железохелатирующих веществ (ЭДТА и дефероксамина) и обусловлено сокращением времени окисления ионов Fe^{2+} до критической концентрации. Можно предположить, что биологически активные вещества, входящие в состав водного извлечения из мате, проявляют как радикалперехватывающую, так и железосвязывающую активность. Было изучено влияние на Fe^{2+} -индуцированное свечение липосом некоторых соединений полифенольной природы из состава водных экстрактов мате — кверцетина, рутина, кофеиновой и хлорогеновой кислот. Установлено, что в липосомальной модельной системе кверцетин действовал как радикальный ингибитор. Смешанный тип действия — радикалперехватывающий и железохелатирующий — наблюдали у рутина, кофеиновой и хлорогеновой кислот. Таким образом, торможение Fe^{2+} -индуцированного пероксидного окисления липидов биологических мембран может быть одним из механизмов антиоксидантных эффектов йерба мате, наблюдаемых *in vivo*.

Ключевые слова: йерба мате, *Ilex paraguariensis*, липосомы, пероксидное окисление липидов, ионы железа, полифенольные соединения, антиоксиданты, хемилюминесценция.

DOI: 10.31857/S0006302922040068, EDN: ITAUBA

Водные извлечения из йерба мате (*Ilex paraguariensis*) обладают антиоксидантными свойствами, которые обусловлены содержанием в них биологически активных веществ (БАВ) полифенольной природы, в частности, кверцетина, рутина, кофеиновой и хлорогеновой кислот, а также их производных [1, 2]. Во многих исследованиях, в том числе и в наших работах, установлена антирадикальная активность водных извлечений

из мате (водных экстрактов мате) по отношению к ряду известных свободных радикалов [3–6].

Важный механизм антиоксидантного действия водных извлечений из мате заключается в торможении реакций свободнорадикального пероксидного окисления липидов (ПОЛ) [4, 7]. Большой интерес представляет изучение влияния мате на процесс ПОЛ, индуцированный ионами металлов переменной валентности, например ионами железа. Известно, что ионы $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ участвуют в продукции активных форм кислорода — $\text{O}_2^{\bullet-}$, H_2O_2 и $\text{OH}^{\bullet}$ и других [8, 9]. В физиологических условиях активные формы кислорода

Сокращения: БАВ — биологически активные вещества, ПОЛ — пероксидное окисление липидов, ВНТ — бутилгидрокситолуол (2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенол).

выполняют сигнальную функцию в клетках, оказывая регулирующее воздействие на работу различных систем организма человека [8, 10, 11]. Нарушение гомеостаза железа в организме приводит к увеличению уровня каталитически активных ионов Fe^{2+} и, как следствие, к усилению продукции радикальных интермедиатов кислорода и активации оксидативного стресса, играющего важную роль в патогенезе ряда заболеваний [8, 12]. В этой связи изучение способности водных извлечений из мате ингибировать процесс липидной пероксидации, индуцированный ионами Fe^{2+} , может иметь большое значение для понимания возможных механизмов антиоксидантных эффектов мате *in vivo*.

Одним из методов, позволяющих исследовать как антирадикальные, так и Fe^{2+} -хелатирующие свойства БАВ, является метод хемилюминесценции, сопровождающей процесс Fe^{2+} -индуцированного ПОЛ модельных мембран (липосом). Установлено, что вещества, перехватывающие липидные радикалы (радикальные ингибиторы), увеличивают время достижения максимальной интенсивности свечения липосом и понижают интенсивность этого свечения, в то время как вещества, хелатирующие ионы Fe^{2+} , при концентрации этих ионов выше критической величины вызывают уменьшение первого показателя и в меньшей степени влияют на второй [13, 14].

Цель исследования — изучить механизм ингибирующего действия водного извлечения из мате на процесс липидной пероксидации липосомальных мембран с использованием метода Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе применяли кверцетин, кофеиновую кислоту, хлорогеновую кислоту, динатриевую соль ЭДТА, тролокс (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновая кислота), дефероксамин, бутилгидрокситолуол (2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенол, ВНТ), 2,3,5,6-ИН,4Н-тетрагидро-9-(2'-бензоксазол-ил)-хинолизин-(9,9a,1-gh)кумарин (С-525), диметилсульфоксид, неорганические соли (все — производства Sigma-Aldrich, США), рутин (Acros Organics, США), яичные фосфолипиды (60% L- α -фосфатидилхолина, Fluka, Швейцария).

В качестве объекта исследования использовали мате торговой марки Amanda категории Desplada (La Cachuela S.A., Аргентина). Водное извлечение из мате получали, как было описано ранее [5]. К навеске сухого растительного сырья добавляли бидистиллированную воду (из расчета 1 мл на 1 мг сырья), образец перемешивали и инкубировали в течение 30 мин на кипящей водяной бане. Затем образец выдерживали при комнатной

температуре в течение 10 мин, охлаждали в холодной воде, восстанавливали общий объем бидистиллированной водой и фильтровали через бумажный фильтр. Приготовленное водное извлечение из мате хранили при 4°C в течение эксперимента (5–6 ч).

Однослойные липосомы из яичных фосфолипидов готовили по методу, описанному в работе [15]. Для этого в 13.5 мл 50 мМ трис-НСl-буфера, содержащего 100 мМ KCl, pH 7.4, быстро впрыскивали 0.5 мл раствора яичных фосфолипидов в этаноле (56 мг/мл) при интенсивном перемешивании. Полученную суспензию липосом инкубировали при слабом равномерном перемешивании в течение 40 мин при комнатной температуре и хранили при 4°C в течение эксперимента. Значения оптической плотности (мутности) суспензии липосом при 600 нм находились в интервале 0.04–0.06.

Процесс ПОЛ липосом инициировали ионами Fe^{2+} . За протеканием процесса пероксидации фосфолипидов липосом наблюдали, регистрируя кинетику хемилюминесценции. Измерение хемилюминесценции липосом проводили на хемилюминометре Lum-5773 (ООО «ДиСофт», Россия) с программным обеспечением PowerGraph 3.3 Professional (www.powergraph.ru). Реакционная среда имела следующий состав: липосомы (0.4 мг фосфолипидов на 1 мл), 1.25 мкМ С-525 в качестве активатора хемилюминесценции [14] в 50 мМ трис-НСl-буфере, содержащем 100 мМ KCl, pH 7.4. Концентрация этанола составляла не более 0.7% по объему. Исследуемые пробы предварительно инкубировали в измерительной ячейке хемилюминометра при постоянном перемешивании в темноте в течение 5 мин для достижения температуры 37°C. Затем индуцировали хемилюминесценцию липосом добавлением сульфата железа в конечной концентрации 15 мкМ. Раствор сульфата железа готовили перед проведением исследования с использованием 0.01 н HCl и хранили при 4°C в течение эксперимента.

При изучении влияния водных извлечений из мате, биологически активных веществ мате, радикальных ингибиторов (ВНТ, тролокс) и хелатирующих веществ (ЭДТА, дефероксамин) на Fe^{2+} -индуцированную хемилюминесценцию липосом их добавляли в реакционную среду после внесения суспензии модельных мембран. При последовательном внесении в пробы необходимых добавок (суспензии липосом, водных извлечений из мате, БАВ, радикальных ингибиторов, хелаторов, С-525, сульфата железа) осуществляли перемешивание с использованием вортекса Reax top (Heidolph, Германия). Кинетику Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции липосом измеряли без перемешивания.

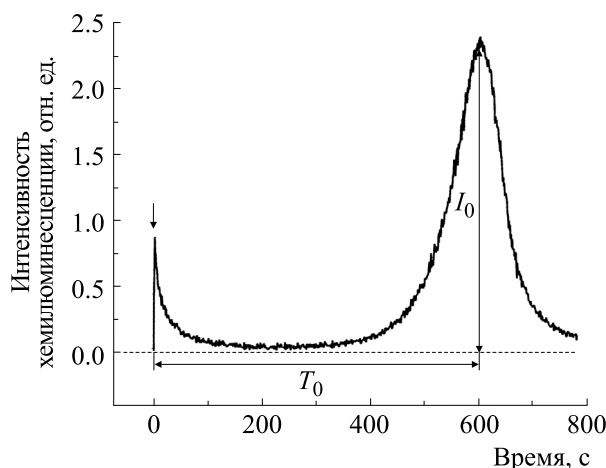


Рис. 1. Кинетика Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции липосом: I_0 — максимальная интенсивность «медленной» вспышки хемилюминесценции; T_0 — время достижения максимальной интенсивности «медленной» вспышки хемилюминесценции. Стрелкой отмечен момент введения сульфата железа.

Исходные растворы ВНТ, кварцетина, кофеиновой и хлорогеновой кислот готовили в этаноле в концентрации 10 мМ. Рабочие растворы кофеиновой и хлорогеновой кислот (1 мМ) получали разведением исходных растворов 50 мМ трис-HCl-буфером, содержащим 100 мМ KCl, pH 7.4. При постановке контролей на этанол кинетика хемилюминесценции липосом не изменялась. Растворы тролокса (1 мМ) и рутина (0.1 мМ) готовили с использованием буферного раствора.

Результаты исследований были обработаны стандартными методами вариационной статистики и представлены в форме средней величины и стандартной ошибки средней ($M \pm m$), рассчитанных по данным трех и более отдельных экспериментов. Оценку достоверности различий между сравниваемыми показателями проводили с помощью t -критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании способность водного извлечения из мате ингибировать процесс Fe^{2+} -индуцированного ПОЛ липосом изучали, регистрируя хемилюминесценцию, активированную кумариновым красителем C-525 [14, 16]. Типичная кинетика Fe^{2+} -индуцированного свечения липосом имела четко выраженные стадии — «быструю» вспышку, «медленную» вспышку и латентный период — время между окончанием «быстрой» вспышки и началом развития «медленного» свечения (рис. 1). «Быстрая» вспышка обусловлена разрушением липидных гидропе-

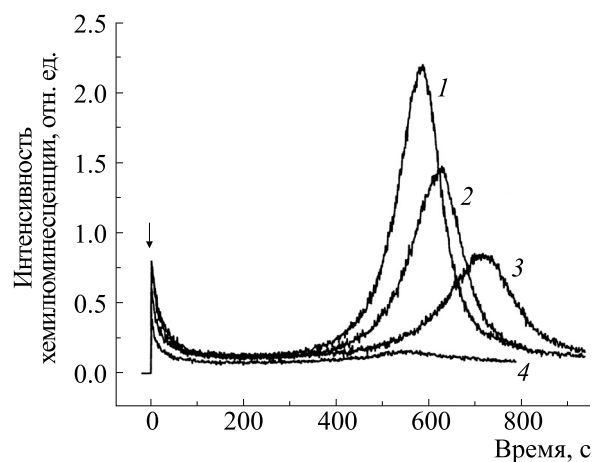


Рис. 2. Влияние водного извлечения из мате на кинетику Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции липосом: 1 — контрольная кинетика; 2, 3, 4 — в присутствии 1.25, 2.5 и 12.5 мкг сухого растительного сырья/мл соответственно. Стрелкой отмечен момент введения сульфата железа.

роксидов, исходно содержащихся в липосомах, при их взаимодействии с ионами Fe^{2+} , а «медленная» вспышка — развитием реакций цепного свободнорадикального окисления липосомальных фосфолипидов. Латентный период — это время, в течение которого свечение угнетается [16]. На практике вместо латентного периода часто определяют время достижения максимальной интенсивности «медленного» свечения, которое отсчитывают от момента введения в суспензию липосом ионов Fe^{2+} [13]. Для анализа антиоксидантных свойств водного извлечения из мате и БАВ нами были использованы относительные показатели — T/T_0 и I/I_0 , где T_0 и T — время достижения максимальной интенсивности хемилюминесценции без и в присутствии исследуемого объекта, I_0 и I — максимальная интенсивность «медленной» вспышки хемилюминесценции без и в присутствии исследуемого объекта.

Добавление водного извлечения из мате к суспензии липосом оказывало существенное влияние на кинетику Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции (рис. 2). В частности, изменялись оба исследуемых показателя свечения липосом (рис. 3). С повышением концентрации водного извлечения из мате в липосомальной суспензии до 2.5 мкг сухого растительного сырья/мл наблюдалось увеличение T/T_0 . При дальнейшем повышении концентрации водного извлечения этот показатель постепенно уменьшался до значений ниже исходных (при концентрации 15 мкг сухого растительного сырья/мл). Показатель I/I_0 снижался дозозависимым образом.

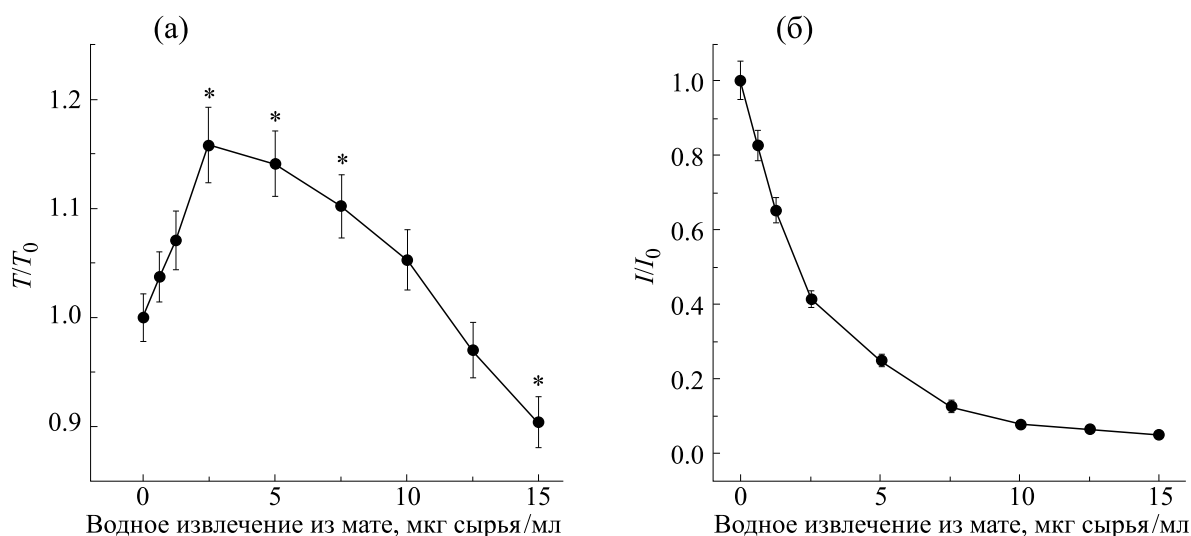


Рис. 3. Влияние водного извлечения из мате на показатели Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции липосом: (а) – T/T_0 , (б) – I/I_0 ; * – $p < 0.05$ по отношению к исходному значению показателя.

Полученный результат показывает, что влияние водного извлечения из мате на Fe^{2+} -индуцированное свечение липосом имеет свои особенности и отличается от описанного ранее некоторыми авторами влияния радикальных ингибиторов и хелаторов ионов Fe^{2+} [13, 14]. По-видимому, эти особенности можно объяснить тем, что БАВ, входящие в состав водного извлечения из мате, обладают как радикалперехватывающей, так и железосвязывающей активностью. Относительно малые количества водного извлечения оказывают действие, аналогичное радикальным ингибиторам – увеличивают T/T_0 и уменьшают I/I_0 . При больших концентрациях наряду с антирадикальными свойствами начинают проявляться и железохелатирующие свойства – значение T/T_0 уменьшается.

Нами изучено влияние кверцетина, рутина, кофеиновой и хлорогеновой кислот – полифенольных соединений, выявленных в водных экстрактах мате [4, 6, 17, 18], – на кинетику Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции липосом в сравнении с классическими радикальными ингибиторами (ВНТ, тролоксом) и хелатором ионов Fe^{2+} (ЭДТА). Обнаружено, что кинетические кривые в присутствии кверцетина и рутина были аналогичны кривым (по изменению T), полученным для ВНТ и тролокса, тогда как кинетики хемилюминесценции в присутствии кофеиновой и хлорогеновой кислот в большей мере соответствовали ЭДТА (рис. 4).

Для выяснения механизма антиоксидантного действия кверцетина, рутина, кофеиновой и хлорогеновой кислот было исследовано изменение

показателей T/T_0 и I/I_0 в зависимости от концентрации этих полифенольных соединений. Установлено, что кверцетин вызывал дозозависимое

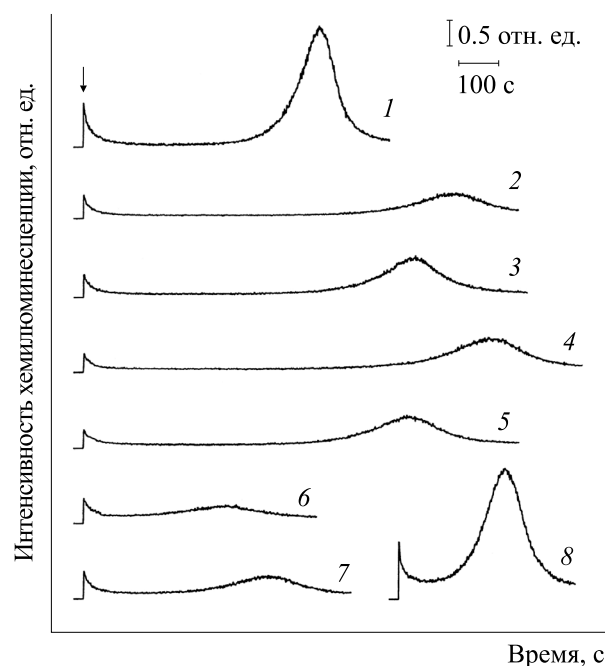


Рис. 4. Влияние биологически активных веществ мате, радикальных ингибиторов и ЭДТА на Fe^{2+} -индуцированную хемилюминесценцию липосом: 1 – контроль; 2 – 0.2 мкМ ВНТ; 3 – 0.5 мкМ тролокса; 4 – 0.5 мкМ кверцетина; 5 – 3 мкМ рутина; 6 – 4 мкМ кофеиновой кислоты; 7 – 4 мкМ хлорогеновой кислоты; 8 – 5 мкМ ЭДТА. Стрелкой отмечен момент введения сульфата железа.

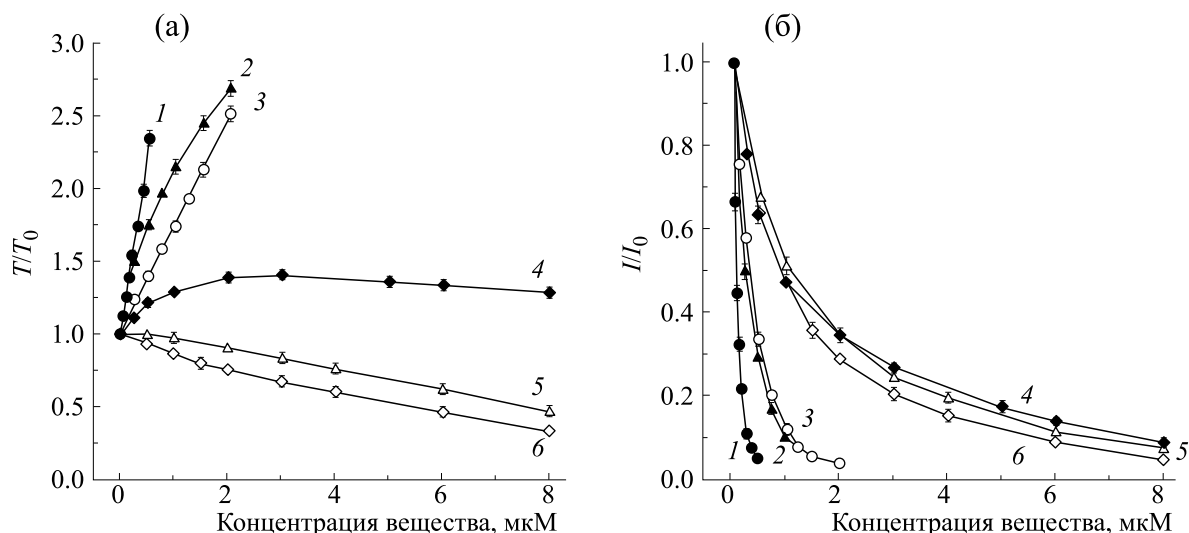


Рис. 5. Влияние биологически активных веществ мате и радикальных ингибиторов на показатели Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции липосом: (а) — T/T_0 , (б) — I/I_0 . 1 — ВНТ; 2 — кверцетин; 3 — тролокс; 4 — рутин; 5 — хлорогеновая кислота; 6 — кофеиновая кислота.

увеличение T/T_0 , тогда как кофеиновая и хлорогеновая кислоты — уменьшение (рис. 5а). В случае рутина повышение его концентрации до 2 μM сопровождалось увеличением T/T_0 до некоторого определенного уровня, который практически не изменялся при дальнейшем повышении концентрации (до 8 μM). Увеличение концентрации изучаемых веществ в суспензии липосом сопровождалось понижением I/I_0 (рис. 5б). При этом значения концентраций, при которых имело место снижение I/I_0 на 50% (IC_{50}), возрастали в следующем ряду: ВНТ < кверцетин, тролокс < кофеиновая, хлорогеновая кислота < рутин.

Необходимо отметить, что регистрируемое уменьшение I/I_0 при увеличении в данной модельной системе концентрации водного извлечения из мате, а также биологически активных веществ мате нельзя объяснить поглощением ими квантов света, испускаемых С-525, который использовался в качестве физического активатора хемилюминесценции липосом. В пользу данного утверждения свидетельствует тот факт, что значения оптической плотности растворов водного извлечения из мате и исследуемых БАВ при их действующих концентрациях в области длин волн, соответствующих испусканию флуоресценции указанного красителя в липосомах (450–580 нм), были меньше 0.01.

Влияние ЭДТА на Fe^{2+} -индуцированную хемилюминесценцию липосом (рис. 6) обусловлено его железохелатирующими свойствами (одна молекула может связать один ион Fe^{2+} или Fe^{3+}). С повышением концентрации ЭДТА в суспензии липосом наблюдалось дозозависимое уменьше-

ние T/T_0 . При концентрациях ЭДТА более 17 μM значения T/T_0 были равны нулю, поскольку свечение липосом не развивалось (все двухвалентное железо связано хелатором). Что касается изменения I/I_0 , то при добавлении ЭДТА данная зависимость имела более сложный характер. В интервале концентраций 5–13 μM интенсивность хемилюминесценции липосом увеличивалась, превышая исходный уровень. Дальнейшее повышение концентрации ЭДТА приводило к уменьшению интенсивности хемилюминесценции липосом ниже исходного уровня (15 μM) и затем к полному ингибированию свечения (более 17 μM). Близкие зависимости для T/T_0 и I/I_0 также были получены для другого хелатирующего агента — дефероксамина. Известно, что дефероксамин обладает высоким сродством к ионам Fe^{3+} , которые связывает в эквимольных концентрациях [19, 20]. Что касается ионов Fe^{2+} , то при взаимодействии с дефероксамином эти ионы окисляются до трехвалентного состояния с образованием комплекса хелатор- Fe^{3+} [21]. Таким образом, добавление к суспензии липосом дефероксамина, как и добавление ЭДТА, будет приводить к уменьшению концентрации активных ионов Fe^{2+} .

Наблюдаемые изменения показателей Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции липосом (T/T_0 и I/I_0) при добавлении к ним водного извлечения из мате или биологически активных веществ мате можно объяснить, если учесть, что в данной модельной системе ионы Fe^{2+} выполняют две противоположные функции. С одной сто-

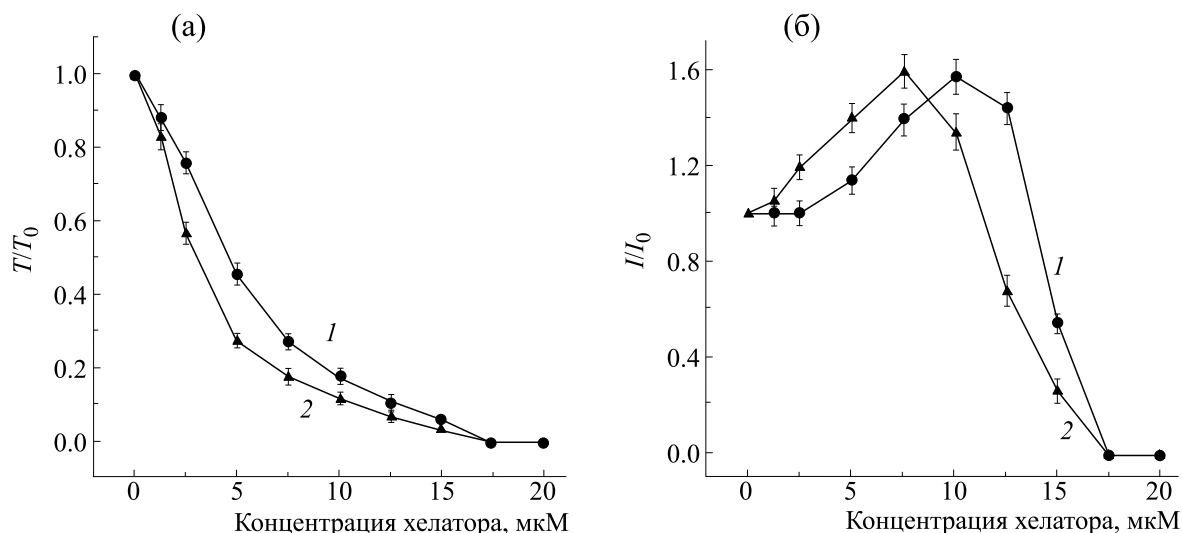
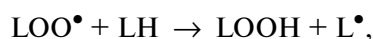
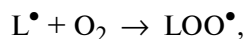
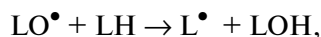
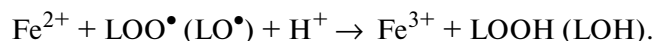


Рис. 6. Влияние хелатирующих агентов на показатели Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции липосом: (а) — T/T_0 , (б) — I/I_0 . 1 — ЭДТА; 2 — дефероксамин.

роны, они выступают в качестве инициатора процесса свободнорадикального ПОЛ, катализируя распад предсуществующих липидных гидропероксидов (LOOH), а также липидных гидропероксидов, образующихся при окислении ненасыщенных жирнокислотных остатков фосфолипидов липосом (LH):

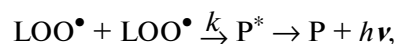


где $\text{L}^\bullet$, $\text{LO}^\bullet$, $\text{LOO}^\bullet$ — соответственно алкильные, алкоксильные и пероксильные радикалы липидов. С другой стороны, ионы Fe^{2+} ингибируют процесс липидной пероксидации, участвуя в реакциях обрыва цепи [22]:



Для возникновения «медленной» вспышки хемилюминесценции липосом концентрация ионов Fe^{2+} должна уменьшиться до некоторой критической величины. Окисление ионов Fe^{2+} до критической концентрации происходит во время латентного периода. Как только концентрация ионов Fe^{2+} достигнет критической, последние начинают выступать главным образом в качестве инициатора процесса ПОЛ, что приводит к развитию «медленной» вспышки хемилюминесценции [13, 22]. Кванты хемилюминесценции обра-

зуются в реакции диспропорционирования двух $\text{LOO}^\bullet$:

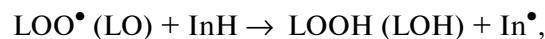


где k — константа скорости реакции диспропорционирования $\text{LOO}^\bullet$, P^* и P — образующиеся молекулярные продукты в возбужденном и основном состояниях соответственно. Интенсивность хемилюминесценции связана с концентрацией $\text{LOO}^\bullet$ следующим образом:

$$I = K \phi k [\text{LOO}^\bullet]^2,$$

где K — константа пропорциональности, ϕ — квантовый выход хемилюминесценции [14, 16, 23].

При введении в суспензию липосом классических радикальных ингибиторов, таких как ВНТ и тролокс, количество генерируемых липидных радикалов уменьшается:



где InH — радикальный ингибитор, $\text{In}^\bullet$ — малоактивный радикал ингибитора. В результате скорость окисления ионов Fe^{2+} до критической концентрации замедляется. Это приводит к увеличению T/T_0 . Что касается I/I_0 , то этот показатель, наоборот, понижается. Добавление хелаторов (ЭДТА, дефероксамина), удаляющих из среды часть активных ионов Fe^{2+} , сокращает время окисления оставшихся свободных ионов Fe^{2+} до критической концентрации, что вызывает уменьшение T/T_0 . Результаты, представленные на

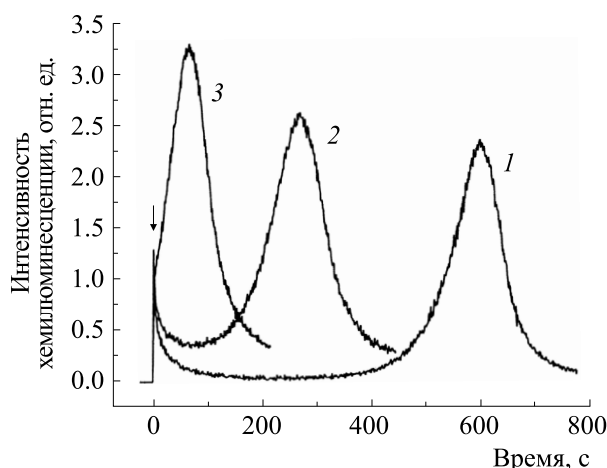


Рис. 7. Влияние ЭДТА на Fe^{2+} -индуцированную хемилюминесценцию липосом: 1 — в отсутствие ЭДТА (контроль); 2 — 5 мкМ ЭДТА; 3 — 12.5 мкМ ЭДТА. Стрелкой отмечен момент введения сульфата железа.

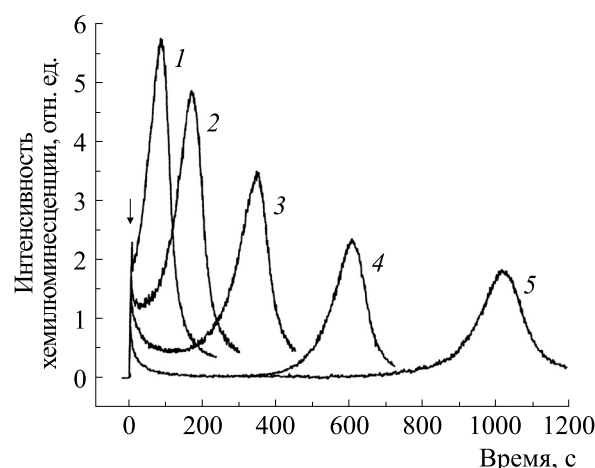


Рис. 8. Влияние концентрации ионов Fe^{2+} на кинетику хемилюминесценции липосом: 1, 2, 3, 4, 5 — 7.5, 10, 12.5, 15 и 25 мкМ Fe^{2+} соответственно. Стрелкой отмечен момент введения сульфата железа.

рис. 5, позволяют сделать вывод, что в пределах исследованного диапазона концентраций кверцетин действует как радикальный ингибитор. Другие БАВ либо увеличивали T/T_0 до некоторой постоянной величины (рутин), либо уменьшали этот показатель (кофеиновая и хлорогеновая кислоты). Полученные зависимости указывают на то, что связывание ионов Fe^{2+} является одним из возможных механизмов антиоксидантного действия данных веществ. С другой стороны, подобно радикальным ингибиторам, эти вещества дозозависимым образом понижали I/I_0 . Таким образом, в случае рутина, кофеиновой и хлорогеновой кислот можно говорить о наложении двух антиоксидантных эффектов.

В отличие от рутина, кофеиновой и хлорогеновой кислот, в присутствии ЭДТА и дефероксамин в определенных диапазонах концентраций значения I/I_0 , наоборот, повышались (рис. 6). По-видимому, это обусловлено тем, что концентрация свободных ионов Fe^{2+} в суспензии липосом приближалась к критической величине. Так, при концентрации ЭДТА, равной 12.5 мкМ, наблюдалось слияние «быстрой» и «медленной» вспышек хемилюминесценции (латентный период отсутствует) и увеличение интенсивности свечения по сравнению с контролем (рис. 7).

Следует отметить, что при изменении начальной концентрации ионов Fe^{2+} в суспензии липосом можно наблюдать кинетики хемилюминесценции, схожие с кинетиками, регистрируемыми при добавлении хелаторов (рис. 8). Например, при концентрации ионов Fe^{2+} , равной 7.5 мкМ, «быстрая» и «медленная» вспышки сливаются в

одну вспышку, тогда как при концентрациях 10 и 12.5 мкМ происходит их разделение. При этом время достижения максимальной интенсивности свечения меньше по сравнению с контролем (15 мкМ), а сама интенсивность свечения выше. Для сравнения: при концентрации ионов Fe^{2+} , равной 25 мкМ, интенсивность «медленного» свечения уменьшалась на 25%, тогда как время достижения максимума хемилюминесценции увеличивалось (необходимо больше времени для окисления ионов Fe^{2+} до критической концентрации). Что касается непосредственно значения критической концентрации ионов Fe^{2+} , то оно было определено с использованием подхода, предложенного в работе [13], и составило 9 мкМ (данные не представлены).

Влияние водных извлечений из мате на процесс ПОЛ в различных биологических объектах исследовано рядом авторов. Обнаружено, что последние ингибируют процесс пероксидации линолевой кислоты [4], ферментативное и неферментативное ПОЛ микросом печени крысы, ПОЛ мембран эритроцитов крысы, индуцированное пероксидом водорода [7]. Наши результаты свидетельствуют о том, что водное извлечение из мате ингибирует процесс Fe^{2+} -индуцированного ПОЛ фосфолипидных липосом. Анализ изменений показателей хемилюминесценции липосом (I/I_0 и T/T_0) позволяет предположить, что наблюдаемый эффект обусловлен способностью некоторых биологически активных веществ мате (например кверцетина, рутина, кофеиновой и хлорогеновой кислот) перехватывать липидные радикалы и связывать ионы Fe^{2+} . Антиоксидантное действие этих БАВ на процесс ПОЛ, иници-

рованный *in vitro* ионами Fe^{2+} , было изучено в ряде работ. В частности, установлено торможение Fe^{2+} -индуцированного ПОЛ гомогенатов мозга крысы кверцетином и рутином [24], а микросом печени быка — хлорогеновой кислотой [25]. Показано ингибирование кофеиновой кислотой липидной пероксидации гомогенатов печени крысы в присутствии ионов Fe^{2+} и пероксида водорода (реактив Фентона) [26]. Авторы этих работ продемонстрировали наличие у кверцетина, рутина и кофеиновой кислоты не только антирадикальных свойств, но и способности связывать ионы Fe^{2+} , тогда как у хлорогеновой кислоты была выявлена способность образовывать комплексы с ионами Fe^{3+} .

Можно предположить, что при добавлении водного извлечения из мате к суспензии липосом входящие в их состав БАВ перераспределяются между водной и липидной фазой. БАВ, находящиеся в растворе, связывают ионы Fe^{2+} , вызывая эффекты, сходные с хелаторами. В то же время БАВ, встроенные в липосомальные мембраны, перехватывают липидные радикалы, действуя как цепь-обрывающие антиоксиданты. Из работы [13] следует, что главную роль в иницировании ПОЛ липосом играют ионы Fe^{2+} , которые связываются с поверхностью липидного бислоя. Нельзя исключить, что полифенольные соединения мате, встроенные в липидную фазу, способны оказывать влияние на каталитическую активность этих ионов. Вклад железосвязывающей активности в общий механизм антиоксидантного действия рутина, кофеиновой и хлорогеновой кислот в липосомальной модельной системе, по-видимому, больше, чем у кверцетина. Однако по сравнению с перечисленными веществами последний обладает наименьшим значением IC_{50} , что позволяет говорить о его более высокой антирадикальной активности.

Способность водных экстрактов мате оказывать антиоксидантное действие на процесс ПОЛ подтверждена в экспериментах на животных, например интактных мышцах [27], а также на моделях гиперхолестеринемии [28], иммобилизационного стресса [29], острого инфаркта миокарда [30]. В исследованиях с участием здоровых добровольцев установлено уменьшение содержания продуктов липидной пероксидации в плазме/сыворотке крови и повышение некоторых показателей антиоксидантной системы после продолжительного употребления водных извлечений из мате [31] или капсул, содержащих сухой экстракт мате, полученный на основе водного извлечения [32]. К настоящему времени на основании результатов многочисленных исследований сложилось мнение, что водные экстракты мате могут использоваться для профилактики и лечения за-

болеваний, сопровождающихся развитием оксидативного стресса [1].

Таким образом, нами показано ингибирующее действие водного извлечения из мате на процесс Fe^{2+} -индуцированной липидной пероксидации липосомальных мембран, которое определяется радикалперехватывающими и железохелатирующими свойствами входящих в его состав полифенольных соединений. Поскольку ионы Fe^{2+} рассматриваются в качестве одного из инициаторов оксидативного стресса *in vivo*, можно предположить, что защита экстрактами мате биологических мембран от свободнорадикального повреждения осуществляется с участием тех же механизмов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. A. Gawron-Gzella, J. Chanaj-Kaczmarek, and J. Cielecka-Piontek, *Nutrients*, **13** (11), 3706 (2021).
2. A. T. Valduga, I. L. Gonçalves, E. Magri, and J. R. Delalibera Finzer, *Food Res. Int.*, **120**, 478 (2019).
3. S. Dudonné, X. Vitrac, P. Coutière, et al., *J. Agric. Food Chem.*, **57** (5), 1768 (2009).
4. C. Anesini, S. Turner, L. Cogoi, and R. Filip, *LWT — Food Science and Technology*, **45**, 299 (2012).
5. Yu. O. Teselkin, I. V. Babenkova, L. A. Pavlova, et al., *Biophysics*, **66** (1), 125 (2021).
6. E. Rzaşa-Duran, A. Kryczyk-Poprawa, D. Drabicki, et al., *Antioxidants (Basel)*, **11** (2), 371 (2022).
7. G. R. Schinella, G. Troiani, V. Dávila, et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **269** (2), 357 (2000).
8. M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, et al., *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **39** (1), 44 (2007).
9. K. Jomova and M. Valko, *Toxicology*, **283** (2–3), 65 (2011).
10. H. Sies and D. P. Jones, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **21** (7), 363 (2020).
11. Y. A. Hajam, R. Rani, and S. Y. Ganie, *Cells*, **11** (3), 552 (2022).
12. E. Gammella, S. Recalcati, and G. Cairo, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2016**, 8629024 (2016).

13. E. Driomina, V. Sharov, and Yu. A. Vladimirov, *Free Radic. Biol. Med.*, **15** (3), 239 (1993).
14. Y. A. Vladimirov, E. V. Proskurnina, and D. Yu. Izmailov, *Biophysics*, **56** (6), 1055 (2011).
15. S. Batzri and D. E. Korn, *Biochim. Biophys. Acta*, **298** (4), 1015 (1973).
16. Yu. A. Vladimirov and E. V. Proskurnina, *Biochemistry (Moscow)*, **74** (13), 1545 (2009).
17. K. A. Berté, M. R. Beux, P. K. Spada, et al., *J. Agric. Food Chem.*, **59** (10), 523 (2011).
18. M. Bojić, V. Simon Haas, D. Sarić, and Z. Maleš, *J. Anal. Methods Chem.*, **2013**, 658596 (2013).
19. G. Jones, S. K. Goswami, H. Kang, et al., *Nanomedicine (Lond.)*, **15** (13), 1341 (2020).
20. D. Bellotti and M. Remelli, *Molecules*, **26** (11), 3255 (2021).
21. D. Yu. Yegorov, A. V. Kozlov, O. A. Azizova, and Yu. A. Vladimirov, *Free Radic. Biol. Med.*, **15** (6), 565 (1993).
22. Z. Cheng and Y. Li, *Chem. Rev.*, **107** (3), 748 (2007).
23. L. A. Romodin, *Acta Naturae*, **13** (3), 90 (2021).
24. A. O. Ademosun, G. Oboh, F. Bello, and P. O. Ayeni, *J. Evid. Based Complementary Altern. Med.*, **21** (4), NP 11 (2016).
25. Y. Kono, S. Kashine, T. Yoneyama, et al., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **62** (1), 22 (1998).
26. T. C. Genaro-Mattos, Â. Q. Maurício, D. Rettori, et al., *PloS One*, **10** (6), 1 (2015).
27. F. Martins, A. J. Suzan, S. M. Cerutti, et al., *Br. J. Nutr.*, **101** (4), 527 (2009).
28. L. Bravo, R. Mateos, B. Sarriá, et al., *Fitoterapia*, **92**, 219 (2014).
29. A. C. Colpo, M. E. de Lima, M. Maya-López, et al., *Appl. Physiol. Nutr. Metab.*, **42** (11), 1172 (2017).
30. L. F. González Arbeláez, J. C. Fantinelli, A. Ciocci Pardo, et al., *Food Funct.*, **7** (2), 816 (2016).
31. R. L. Matsumoto, D. H. Bastos, S. Mendonça, et al., *J. Agric. Food Chem.*, **57** (5), 1775 (2009).
32. A. M. Becker, H. P. Cunha, A. C. Lindenberg, et al., *Plant Foods Hum. Nutr.*, **74** (4), 495 (2019).

Inhibitory Effect of Aqueous Extract from Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) on the Process of Lipid Peroxidation of Liposomal Membranes

Yu.O. Teselkin*, I.V. Babenkova*, A.A. Kochetova*, and A.N. Osipov*

*Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, ul. Ostrovityanova 1, Moscow, 117997 Russia

The effect of aqueous extract from yerba mate (*Ilex paraguariensis*) on the Fe^{2+} -induced lipid peroxidation in phospholipid liposomal membranes was investigated. The process of lipid peroxidation in liposomes was explored based on the kinetic curves of chemiluminescent reactions in the presence of coumarin C-525. With increasing concentration of aqueous extract from yerba mate in the liposome suspension, a rise in the time period within which the “slow flash” of chemiluminescence reached its maximum value and a decrease of its intensity were observed. This indicates a decrease in the oxidation rate of Fe^{2+} and a decrease in the rate forming lipid radicals, respectively. Similar results were obtained after addition of classical radical inhibitors butylhydroxytoluene and trolox to liposomes. However, unlike radical inhibitors, a further increase in the concentration of aqueous extract from mate in the liposomal suspension (more than 2.5 μg of dry plant raw material/ml) was accompanied by a gradual decrease in the time period within which the “slow flash” of chemiluminescence reached its maximum value, which was typical of the action of iron chelating agents (EDTA and deferoxamine) and caused by a decreased time of Fe^{2+} oxidation to the critical concentration. It can be supposed that biologically active substances in the composition of aqueous extract from mate exhibit both their radical scavenging activity and iron binding ability. The effects of some polyphenolic compounds from the composition of aqueous extracts from mate (quercetin, rutin, chlorogenic acid and caffeic acid) on the Fe^{2+} -induced liposome chemiluminescence were studied. It has been established that quercetin in a liposome-based model system acted as radical inhibitor. Our study showed that rutin, caffeic acid and chlorogenic acid exhibit a mixed type of action, they can act as radical scavengers and iron binding agents. Thus, inhibition of Fe^{2+} -induced lipid peroxidation in biological membranes can be one of the mechanisms for antioxidant effects of yerba mate observed *in vivo*.

Keywords: yerba mate, *Ilex paraguariensis*, liposomes, lipid peroxidation, iron ions, polyphenolic compounds, antioxidants, chemiluminescence